

Aspects of postprandial protein handling

Citation for published version (APA):

Groen, B. B. L. (2016). *Aspects of postprandial protein handling*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20161104bg>

Document status and date:

Published: 01/01/2016

DOI:

[10.26481/dis.20161104bg](https://doi.org/10.26481/dis.20161104bg)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Summary

Aging is accompanied by a progressive decline in skeletal muscle mass and strength, known as sarcopenia, leading to the loss of functional capacity and an increased risk of developing chronic metabolic disease. Sarcopenia increases hospital and/or nursing home admissions and may reduce the quality of life of older individuals. It has been well established that protein turnover in skeletal muscle tissue is highly responsive to nutrient intake and muscle contraction. Protein ingestion stimulates muscle protein synthesis and inhibits muscle protein breakdown resulting in net muscle protein accretion. Disturbances in skeletal muscle protein turnover result in a structural imbalance between protein synthesis and breakdown, leading to sarcopenia. The postprandial muscle protein synthetic and anti-proteolytic response to feeding is regulated on various levels, ranging from protein digestion and amino acid absorption, the postprandial rise in circulating insulin, the subsequent increase in microvascular recruitment, amino acid uptake in skeletal muscle tissue, and myofibrillar muscle protein synthesis and breakdown. All of these aspects of postprandial protein handling may play a role in the reduced sensitivity of senescent muscle to the anabolic properties of amino acids, a phenomenon that is now referred to as the 'anabolic resistance of aging'.

In **chapter 2**, we apply a combination of methods to assess *in vivo* dietary protein digestion and subsequent amino acid absorption, the appearance of dietary protein derived amino acids in the circulation, the uptake and release of amino acids over the leg, the postprandial stimulation of muscle protein synthesis as well as the use of protein derived amino acids for *de novo* muscle protein synthesis within one single experiment. Ingestion of a single meal-like amount of protein allows ~55% of the protein derived amino acids to become available in the circulation, thereby improving whole-body as well as leg muscle protein balance. Approximately 20% of the protein derived plasma amino acids are taken up in skeletal muscle tissue during a 5 h postprandial period, thereby stimulating muscle protein synthesis rates and providing precursors for *de novo* muscle protein. Chapter 2 quantifies postprandial protein handling and the subsequent use of dietary protein derived amino acids for *de novo* muscle protein synthesis *in vivo* in humans and provides a complete and comprehensive insight in the fact that you actually are what you just ate.

Many of the parameters that define postprandial protein handling are modulated by the postprandial rise in circulating insulin. Insulin stimulates muscle protein synthesis directly by activating the translational machinery. Furthermore, insulin may modulate postprandial precursor availability by stimulating nutritive blood flow to skeletal muscle tissue and enhancing amino acid uptake. However, the proposed role of insulin in stimulating postprandial muscle protein synthesis has been subject of intense debate. It remains unclear whether circulating insulin levels are merely permissive or rather modulatory in facilitating the postprandial increase in muscle protein synthesis. In

chapter 3 we assess to what extent a physiological increase in postprandial insulin availability stimulates postprandial amino acid uptake, increases muscle protein synthesis, and augments the use of protein derived amino acids for *de novo* muscle protein synthesis in young and older males. This chapter provides a multi-level assessment of the impact of insulin availability on postprandial protein handling following ingestion of a single meal-like amount of protein in young and older males. We conclude that greater postprandial plasma insulin availability stimulates amino acid uptake over the leg but does not further augment the postprandial muscle protein synthetic response to protein feeding in healthy young and older males. Therefore, the postprandial rise in circulating insulin should be regarded as permissive rather than modulatory in driving the postprandial increase in muscle protein synthesis rates in both healthy young and older men.

Adequate muscle perfusion is essential for muscle mass maintenance, as it determines the rapid postprandial delivery of amino acids, nutrients and growth factors to the muscle, thereby stimulating muscle protein synthesis. An impaired responsiveness of the skeletal muscle microvasculature to postprandial insulin release may be attributed to impairments in muscle microvascular structure and endothelial function, which may include a decline in capillary density and structural changes of the endothelial wall. In **chapter 4** we selected both young, older, as well as older, type 2 diabetic patients to compare muscle fiber type specific capillary density and endothelial function between healthy young, older men and age-matched type 2 diabetes patients. We conclude that aging and type 2 diabetes are accompanied with a reduced muscle mass, lower insulin sensitivity, reduced skeletal muscle capillary density, and compromised endothelial wall function. These observations indicate that both quantitative and qualitative changes in the microvasculature may contribute to the loss of skeletal muscle mass and the development of insulin resistance at a more advanced age and with type 2 diabetes.

In Chapter 5 and 6 we shift our focus towards a more practical approach. Two proof of principle studies extend on our previous findings and aim to optimize the postprandial response in older people. In **chapter 5**, we assess the impact of protein administration during sleep on *in vivo* protein digestion and absorption kinetics and subsequent muscle protein synthesis rates in older men. We conclude that protein administration during overnight sleep is followed by proper dietary protein digestion and absorption kinetics, thereby increasing plasma amino acid availability throughout the night. An increase in overnight plasma amino acid availability stimulates muscle protein synthesis during sleep and improves overnight whole-body protein balance in older males. Nocturnal dietary protein administration may represent an effective nutritional intervention strategy to support muscle mass maintenance in both health and disease.

In **chapter 6** we introduce neuromuscular electrical stimulation (NMES) as an exercise mimetic to allow muscle contractions to occur. NMES can be used to attenuate disuse related anabolic resistance in older and clinically compromised populations. We performed unilateral NMES in the evening after a day of bed rest in 20 healthy older

males to test whether the combination of NMES with dietary protein feeding prior to sleep could further stimulate overnight muscle protein accretion. It is concluded that the application of NMES in the evening further augments postprandial muscle protein accretion following protein ingestion prior to sleep. The application of NMES combined with protein ingestion prior to sleep represents a feasible strategy to optimize overnight muscle protein accretion, and may be of great clinical benefit to attenuate muscle loss in (more) clinically compromised individuals.

The final chapter elaborates on the primary findings described in this dissertation and identifies a number of topics that need to be addressed in the future. This dissertation shows that a combination of various factors modulate the postprandial muscle protein synthetic response to protein ingestion. Optimizing the metabolic fate of ingested protein to maximize postprandial muscle protein synthesis rates may contribute to the preservation of skeletal muscle mass with aging or in various clinical settings in more compromised patient populations.

Samenvatting

Samenvatting

Veroudering gaat gepaard met progressief verlies van spiermassa en spierkracht, ook wel bekend als sarcopenie. Sarcopenie leidt tot verlies van functionele capaciteit en is gerelateerd aan een hoger risico op het ontwikkelen van chronisch metabole ziekten. Ook gaat sarcopenie gepaard met verminderde mobiliteit en zelfredzaamheid, wat leidt tot een grotere kans op hospitalisatie of opname in een zorginstelling. Tenslotte gaat sarcopenie vaak gepaard met een afname in kwaliteit van leven.

Fysieke activiteit en gezonde (met name eiwitrijke) voeding blijken beide op effectieve wijze spieropbouw (synthese) te stimuleren en dragen daarmee bij aan behoud van spiermassa en functionele capaciteit bij ouderen. De verhoogde spiereiwietsynthese na inname van eiwitten in de voeding wordt gereguleerd door verschillende processen. Meest relevant voor dit proefschrift zijn de vertering van eiwitten, opname van aminozuren in de darm, het beschikbaar komen van aminozuren in de bloedsomloop, het transport van aminozuren naar skeletspierweefsel, de opname van aminozuren door spiercellen, en uiteindelijk de intracellulaire signalering die spiereiwietsynthese activeert. Op een hogere leeftijd lijken de spieren minder gevoelig voor de anabole werking van eiwit inname. Dit noemen we anabole resistentie. Anabole resistentie speelt een belangrijke rol bij het verlies van spiermassa bij ouderen en patiënten, maar het exacte mechanisme dat hieraan ten grondslag ligt is nog niet duidelijk.

In **hoofdstuk 2** wordt een aantal methoden gecombineerd om de anabole response na inname van 20 gram eiwit op kwantitatieve wijze in beeld te brengen. We bestuderen de eiwitvertering, de aminozuurabsorptie, het transport van de aminozuren in de bloedbaan, de opname en afgifte van aminozuren over het been en tenslotte de directe stimulatie van spiereiwietsynthese door de oraal ingenomen eiwitten. We concluderen dat 55% van de aminozuren die als eiwit geconsumeerd wordt, beschikbaar komt in de bloedbaan. Deze verhoogde beschikbaarheid van aminozuren stimuleert de spiereiwietsynthese, waarbij ongeveer 20% van de aminozuren afkomstig van de geconsumeerde eiwitten in spiereiwit wordt ingebouwd gedurende de eerste 5 uur na eiwitconsumptie. Hoofdstuk 2 schetst daarmee een kwantitatief beeld van wat er met geconsumeerde eiwitten in het menselijk lichaam gebeurt. In het bijzonder geeft het de relatie weer tussen oraal ingenomen eiwitten en de daaropvolgende stimulatie van de spiereiwietsynthese. Dit hoofdstuk vormt een wetenschappelijk fundament voor de bekende uitdrukking: *je bent wat je eet*.

De metabole weg die oraal ingenomen eiwitten afleggen alvorens tot stimulatie van eiwietsynthese te kunnen leiden, wordt op verschillende manieren beïnvloed door het hormoon insuline. Insuline stimuleert onder andere de aanmaak van spiereiwitten door op moleculair niveau de translatie en transcriptie voor de vorming van spiereiwitten te stimuleren. Daarnaast speelt insuline ook een belangrijke rol bij het verhogen van de doorbloeding in organen en spierweefsel. De toename in de doorbloeding verbetert mogelijk de opname van aminozuren en daarmee de aminozuur beschikbaarheid in

spierweefsel. De rol van insuline in dit laatstgenoemde proces staat echter al lange tijd ter discussie. Onbekend is of insuline alleen een ondersteunende functie in dit proces heeft, of dat het ook een direct stimulerende werking heeft op de spiereiwietsynthese. Daarom bestuderen we in **hoofdstuk 3** de rol van insuline met betrekking tot de opname van aminozuren in de bloedbaan en spierweefsel, stimulatie van de spiereiwietsynthese, en de mate waarin het geconsumeerde eiwit bijdraagt aan de vorming van nieuw spierweefsel bij gezonde jonge en oudere mannen. We concluderen dat verhoogde insulineconcentraties weliswaar resulteren in een verhoogde opname van aminozuren vanuit de darm in de bloedbaan en de spieren, maar dat deze verhoogde opname uiteindelijk niet leidt tot een verdere stimulatie van de spiereiwietsynthese bij gezonde jongeren en ouderen. De rol van insuline gedurende de postprandiale fase is dus ondersteunend van aard en heeft geen direct stimulerende werking op de aanmaak van nieuwe spiereiwitten.

Een adequate doorbloeding is belangrijk voor het behoud van spierweefsel. De mate van doorbloeding bepaalt hoeveel aminozuren, voedingsstoffen en groeifactoren tijdens de postprandiale fase de spier bereiken. De aanwezigheid van deze stoffen is noodzakelijk om groei en behoud van spierweefsel mogelijk te maken. Afname of beperkingen in de microvasculaire spierdoorbloeding gedurende de postprandiale fase kunnen een oorzaak zijn van spiermassaverlies tijdens veroudering en/of ziekte. Afname of beperkingen in de doorbloeding kunnen voortkomen uit structurele en functionele veranderingen in de microvascularisatie. Een afname van de capillaire dichtheid in spierweefsel rekent men tot structurele veranderingen. Veranderingen in de samenstelling van de binnenste bekleding van de vaatwand (de endotheellaag) mogen beschouwd worden als een functionele verandering. In **hoofdstuk 4** vergelijken we daarom de capillaire dichtheid van het spierweefsel en het functioneren van de glycocalyx als onderdeel van de endotheellaag in gezonde jongeren, gezonde ouderen en ouderen gediagnosticeerd met type 2 diabetes mellitus (ouderdomssuikerziekte). We concluderen dat zowel veroudering als type 2 diabetes mellitus gepaard gaan met een afname van de capillaire dichtheid en een afname in de dichtheid van de glycocalyx. Deze observaties vormen een sterke indicatie dat zowel op structureel als op functioneel niveau belangrijke veranderingen in de microvascularisatie plaatsvinden bij ouderen en insuline-resistente patiënten, en dat deze veranderingen kunnen bijdragen aan verlies van spiermassa.

In hoofdstuk 5 en 6 verleggen we de focus naar praktijkgericht interventieonderzoek. De resultaten zoals gepresenteerd in de hoofdstukken 2 t/m 4 dienen als uitgangspunt om de postprandiale spiereiwietsynthese respons bij ouderen te optimaliseren. In **hoofdstuk 5** bestuderen we nachtelijke spiereiwietsynthese bij gezonde ouderen die tijdens slaap een bolus eiwit krijgen toegediend. Het toedienen van 40 gram eiwit tijdens de slaap wordt gevolgd door een effectieve eiwitvertering en aminozuur-absorptie. Dit resulteert in een verhoogde beschikbaarheid van aminozuren in het bloed die daarmee als bouwstenen voor de nieuw te vormen spiereiwitten kunnen

fungeren. De beschikbare aminozuren verhogen de nachtelijke eiwitsynthese, alsmede de netto eiwitbalans gedurende de nacht. Hiermee wordt aangetoond dat nachtelijke toediening van eiwitten via de voeding een efficiënte interventiestrategie kan vormen om het verlies van spiermassa bij veroudering en/of ziekte tegen te gaan.

In **hoofdstuk 6** introduceren we neuromusculaire elektrostimulatie (NMES) om op kunstmatige wijze spiercontracties te bewerkstelligen. Bewezen is dat NMES een effectieve methode is om anabole resistentie te voorkomen bij kwetsbare patiënten die gedurende korte of langere tijd geïmmobiliseerd zijn en geen fysieke activiteit kunnen uitvoeren. In het experiment zoals beschreven in hoofdstuk 6 wordt NMES toegepast op één been bij gezonde oudere mannen nadat zij een dag inactief op bed hebben gelegen. Voor de nacht consumeerden zij een identieke hoeveelheid eiwit zoals beschreven in hoofdstuk 5. Bestudeerd wordt of het toepassen van NMES de postprandiale eiwitrespons gedurende de nacht verder kan verhogen in vergelijking met het niet-gestimuleerde been. Geconcludeerd wordt dat NMES inderdaad de nachtelijke opbouw van nieuwe spiereiwitten verhoogt wanneer deze vergeleken wordt met het niet-gestimuleerde been na inname van 40 gram caseïne eiwit. Hieruit blijkt dat de combinatie van de inname van eiwitrijke voeding voor of tijdens het slapen (hoofdstuk 5) met neuromusculaire elektrostimulatie een effectieve strategie zou kunnen zijn om spiermassaverlies bij ouderen en/of patiëntengroepen te vertragen of zelfs te voorkomen.

Het laatste hoofdstuk plaatst de resultaten uit de voorafgaande hoofdstukken in een breder perspectief en benoemt een aantal aandachtsgebieden die in toekomstig onderzoek verdere verdieping behoeven. Dit proefschrift laat zien dat verschillende factoren een modulerende rol spelen bij de regulatie van postprandiale spiereiwitsynthese. Optimalisatie van de postprandiale spiereiwitsynthese draagt bij aan het behoud van spiermassa in zowel gezonde ouderen als patiënten, en kan de functionaliteit en mobiliteit positief beïnvloeden.